вого, углеводного, жирового и минерального обменов.

2. Изменения, протекающие в организме клинически здоровых (условно) телят является отражением клинического статуса телят (нарушение физиологических функций организма, деятельность функциональных систем).

3. Такая картина свидетельствует о физиологической незрелости телят и о том, что они находятся в состоянии предболезни.

Литература

1. Грибовский Г.П. Научное обоснование комплекса мероприятий по снижению аномального содержания микроэлементов на организм животных и качество продуктов животноводства на Южном Урале: Автореферат дис. д-ра вет. наук. 16.00.06. М., 1996.
2. Кабыш А.А. Эндемическая остеодистрофия крупного рогатого скота на почве недостатка микроэлементов. Челябинск: Южно-Уральское кн. изд-во. 1967, с.59.
3. Кабыш А.А. Нарушение фосфорно-кальциевого обмена у животных на почве недостатка и избытка микроэлементов в зоне Южного Урала. – Челябинск, 2006. 408 с.
4. Шепелева Т.А. Применение макро- и микроэлементов при диспепсии телят в экологически неблагополучной зоне Южного Урала. Дисс. на соискание уч. степ. канд. ветнаук. Троицк, 1998.

УДК 619:615.28

К.В. Гаврилин, Г.А. Мамыкина

ООО «НВЦ Агроветзащита», ООО «Аргус»

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ЭКТОПРОТОЗОЙНЫХ ИНВАЗИЯХ РЫБ

Введение

Среди пресноводных рыб широко распространены заболевания, вызванные паразитическими представителями подцарства Protozoa. На поверхности и в открытых полостях тела пресноводных рыб наиболее часто паразитируют жгутиконосцы отрядов Kinetoplastida и Dinoflagellida, ресничные инфузории отрядов Cyrtophorida, Hymenostomatida, Peritrihida, Suctorida и некоторые других.

Патогенез этих заболеваний связан с повреждением целостности покровных тканей рыб при питании и прикреплении простейших. Раздражение тканей приводит к выделению повышенных количеств слизи, что является защитной реакцией макроорганизма. Клиническая картина при этих заболеваниях характеризуется появлением на поверхности тела серых пятен, разрушением плавников, явлениями дыхательной недостаточности. При дальнейшем развитии заболеваний, как правило, развиваются симптомы характерные для бактериальных поражений: геморрагии и петехии на теле, кровоизлияния в плавники, образуются язвы. Исследователями - ихтиопатологами неоднократно высказывалось предположение, что эктопротозойные инвазии достаточно часто сопровождаются вторичной бактериальной инфекцией [1, 2, 3].

Взаимосвязь между частотой бактериальных осложнений с видом паразита и с основными параметрами инвазии, такими как экстенсивность инвазии (ЭИ), интенсивность инвазии (ИИ), индексом обилия паразитов (ИО) остается не установленной. Так как наличие этих данных позволит своевременно корректировать методы лечения рыб, пораженных эктопротозойными инвазиями, мы провели ряд исследований.

Целью нашей работы было: исследовать частоту бактериальных осложнений при различных эктопротозойных болезнях рыб, установить взаимосвязь между обсемененностью поверхности тела рыб бактериями и основными параметрами количественно характеризующими инвазию.

Материалы и методы

Работу провели в 2004-2007 г.г. в аквариальном закупочно-карантинном цеху ООО «Аргус». Объектом исследования служили группы рыб меченосцев (Hiphophorus helleri) и пецилий (Poecilia velifera) спонтанно инвазированные костиозом (Costia sp.), триходинозом (Trichodina sp.) и апиозомозом (Apiosoma sp.).

Из каждой группы рыб случайным образом отбирали 10 экз. и подвергали паразитологическим и микробиологическим исследованиям.

С поверхности тела и жабр каждой ис-

следуемой рыбы брали соскоб слизи и изготовляли компрессионный препарат, который микроскопировали при увеличении в 154 раза. Подсчитывали количества простейших в одном поле зрения (шт. в п. з.) и брали среднюю величину из результатов просмотра 10–15 полей. Эктопаразитических простейших идентифицировали до рода при помощи определителей паразитов пресноводных рыб [4]. Изучали следующие характеризующие инвазию величины: ЭИ – процент особей в группе, у которых обнаружены паразиты, ИИ – среднее количество паразитов обнаруженных на пораженных особях, ИО – количество паразитов приходящихся на каждую особь в выборке.

Пробы для микробиологических исследований брали от тех же особей, сразу после паразитологического обследования.

Первоначально с 0,5 см^2 поверхности тела рыбы, после ее ополаскивания стерильным физиологическим раствором стерильным тампоном брали соскоб, который помещали в 5 мл стерильного физиологического раствора и после его взбалтывания делали высев 0,05 мл на плотную питательную среду – мясопептонный агар (МПА).

Затем рыбу асептически вскрывали и иссекали 0,2 г материала печени, который помещали в 2 мл стерильного физиологического раствора и многократным пипетированием суспензировали. Из полученной суспензии стерильной пипеткой делали высев по 0,05 мл на плотную питательную среду МПА.

Количество колоний выросших на чашке Петри подсчитывали. Результат представляли в виде КОЕ/см^2 (колониеобразующие единицы на 1 см^2 поверхности тела) или КОЕ/г (в 1 г печени).

Образование индола учитывали мо методу Синева [5], а наличие цитохромоксидазы по Эрлиху [6]. Отношение к окраске по Граму определяли тестом с 3% КОН.

Идентификацию выделенных бактериальных штаммов проводили при помощи Определителя бактерий Бержи [7] и руководства по изучению энтеробактерий Ф. Кауфмана [8].

Способность бактериальных штаммов продуцировать гемолизины изучали на кровяном агаре, с эритроцитами барана.

Статистическую и математическую обработку полученных данных проводили при помощи пакета прикладных программ для ПК Microsoft office excel 2003. Корреляционный анализ проводили методом квадратов [9].

Результаты и обсуждения

В ходе работ были исследованы 36 партий рыб (по 18 каждого вида), завезенных в РФ из стран юго-восточной Азии. Из обследованных групп рыб 30 в различной степени были поражены костиозом (Costia sp.), триходинозом (Trichodina sp.) или апиозомозом (Apiosoma sp.), а 6 были свободны от паразитов.

У меченосцев и пецилий пораженных костиозом или триходинозом на 4 – 7 день после размещения на карантин развивалась характерная для эктопротозойных заболеваний клиническая картина. Еще через 3–6 дней появлялись симптомы характерные для бактериальных заболеваний. В случае апиозомоза симптомы эктопротозойной инвазии, как правило, были менее выраженными и появлялись позднее, а клиническая картина, характерная для секундарной инфекции, не развивалась.

Рыбы, у которых паразиты не были обнаружены, оставались здоровыми и не демонстрировали никаких отклонений от нормального поведения.

После проведения комплекса паразитологических и микробиологических исследований и обработки экспериментального материала получены следующие данные.

У меченосцев свободных от эктопаразитов обсемененность поверхности тела колебалась от 0 до 9,3 КОЕ/см^2. Но уже при обнаружении у 10% рыб 10 костий в поле зрения микроскопа среднее по группе количество микроорганизмов возрастало до 20 КОЕ/см^2. Аналогичная картина наблюдалась и в случае их поражения триходинами. При ЭИ – 20 и ИИ – 15 количество бактерий на поверхности тела составляло 31,2 КОЕ/см^2. В группах рыб с большим количеством паразита обсемененность поверхности тела была выше. При ЭИ от 50 до 100% и ИИ от 24 до 54 паразитов в поле зрения она составляла 60–98,6 КОЕ/см^2. Причем большему количеству паразитов, как правило, соответствовала более массивная контаминация поверхности тела. В случае апиозомоза, так же отмечено нарастание численности микроорганизмов в зависимости от пораженности рыб сидячими инфузориями. Но количество микроорганизмов даже при высоком уровне инвазии (ЭИ-100%, ИИ – 10 паразитов в поле зрения) мало отличалось от нормы и составляло в среднем 16,4 КОЕ/см^2. Это объясняет отсутствие клинических признаков бактериоза в пораженных апиозомами группах рыб. Сидячие инфузории рода Apioso-

Таблица 1

Корреляционная связь основных параметров характеризующих инвазию с обсемененностью поверхности тела рыб

Вид рыб	Диагноз	Коэффициенты корреляции		
		ЭИ/КОЕ на см²	ИИ/КОЕ на см²	ИО/КОЕ на см²
Hiphophorus helleri	Костиоз	0,78±0,23	0,31±0,11	0,93±0,13*
Poecilia velifera	Костиоз	0,86±0,19*	0,98±0,07*	0,75±0,25
Hiphophorus helleri	Триходиноз	0,99±0,05*	0,74±0,16	0,80±0,22**
Poecilia velifera	Триходиноз	0,97±0,09*	0,89±0,16*	0,99±0,05*
Hiphophorus helleri	Апиозомоз	0,83±0,20**	0,77±0,24	0,92±0,14*
Poecilia velifera	Апиозомоз	0,84±0,20**	0,84±0,20**	0,71±0,26

Примечание: *- данные статистически достоверны (P<0,01), **- данные статистически достоверны (P<0,05).

Таблица 2

Сравнительная характеристика микробиоценозов поверхности тела и печени рыб

Вид рыб	Микробиоценоз поверхности тела		Микробиоценоз печени	
	КОЕ/см²	Состав	КОЕ/г	Состав
Hiphophorus helleri	9,3±3,0	Acinetobacter calcoaceticus Staphilococcus epidermidis	0,0	-
Poecilia velifera	11,3±3,4	Acinetobacter calcoaceticus Staphilococcus epidermidis	0,0	-
Poecilia velifera	31,6±3,2	Aeromonas sp. Acinet. calcoaceticus Staph. epidermidis	0,0	-
Poecilia velifera	48,6±6,8	Aeromonas sp. Acinet. calcoaceticus Flavobacterium	4,6±1,3	Aeromonas sp.
Hiphophorus helleri	54,0±7,3	Aeromonas sp. Flavobacterium Bacillus sp.	3,8±1,9	Aeromonas sp. Flavobacterium
Hiphophorus helleri	60,0±7,7	Moraxella sp. Acinet. calcoaceticus Staph. epidermidis	100,0±10,0	Moraxella sp.
Hiphophorus helleri	98,6±9,9	Moraxella sp. Acinet. calcoaceticus	120,0±10,6	Moraxella sp.

ma по типу питания являются сапрофитами и используют рыбу только как субстрат для прикрепления, что до недавнего времени давало основание считать их безвредными комменсалами [10]. Скорее всего, они в меньшей степени, чем триходины и кости повреждают покровные ткани рыб, что и объясняет меньшую обсемененность поверхности тела.

При исследовании групп пецилий получены сходные результаты. Уже при незначительной пораженности рыб костиями и триходинами ЭИ от 10 до 20% и ИИ от 26,0 до 30,2 паразитов в поле зрения обсемененность поверхности тела составляет 28,4–54,0 КОЕ/см², в то время как у здоровых рыб аналогичный показатель 0 до 6,8 КОЕ/см². В случае апизоомоза, у рыбы максимально пораженной из исследованных групп (ЭИ-100%, ИИ – 8,2 паразита в поле зрения) среднее количество бактерий составляло 10,4 КОЕ/см².

Наибольший удельный вес в исследованных микробиоценозах имели грамнегативные условно-патогенные микроорганизмы: 35% – представители рода Aeromonas, 15% – Moraxella, 13% – Acinetobacter, 14% – Escherichia coli, 6% – Flavobacterium, 4% – Proteus и 13% приходится на грамположительную микрофлору. Все выделенные грамотрицательные микроорганизмы неоднократно описаны в качестве патогенов рыб [11, 12, 13, 14].

Результаты исследования корреляционной связи между различными параметрами, характеризующими инвазию и обсемененность поверхности тела рыб, представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы в подавляющем большинстве случаев существует прямая сильная связь между инвазированностью рыб различными простейшими эктопаразитами и количеством микроорганизмов на поверхности тела. Причем все три исследованных нами параметра, характеризующих инвазию, могут являться достаточно информативными, в большей степени ЭИ и в меньшей ИИ и ИО.

Рядом исследователей показана взаимосвязь между бактериальной обсемененностью воды условно-патогенными микроорганизмами, и наличием микрофлоры во внутренних органах рыб [15, 16]. Это свидетельствует о том, что находящаяся на поверхности микрофлора способна проникать в органы и ткани рыб, в результате чего начинает развиваться эндогенный септический бактериоз, приводящий к развитию геморрагий, язв и т.д.

При этом возникает ряд вопросов. Какие микроорганизмы и в какой степени способны вызывать сепсис? Какую обсемененность поверхности тела можно считать «критической», когда развитие системной инфекции становиться неизбежным? Для решения этих вопросов нами проведено сопоставление количественных и качественных характеристик микробиоценозов поверхности тела и печени некоторых исследованных групп рыб (табл. 2).

При анализе данных представленных в таблице видно, что единичная микрофлора во внутренних органах появляется при нахождении на поверхности тела рыбы 48,6 – 54,0 КОЕ/см^2. Между количеством микрофлоры на поверхности тела и в печени обнаружена прямая сильная корреляционная связь (0,91±0,16).

Обратил на себя внимание тот факт, что не вся представленная на поверхности микрофлора (зачастую в значительных количествах) обнаруживается в печени. Скорее всего, это связано со способностью микроорганизмов продуцировать различные биохимические факторы агрессии. Это предположение подтверждает результаты исследования гемолитической активности выделенной микрофлоры. Среди микрофлоры выделенной из печени рыб количество гемолитических штаммов было почти в два раза больше чем среди бактерий обнаруженных на поверхности тела (46,6 и 28,3% соответственно). Причем среди штаммов, обладающих гемолизом чаше всего встречались представители родов Moraxella – 30% от исследованных, Aeromonas – 28% и Acinetobacter - 28%.

Наряду с этим ряд авторов указывает, что в случае сильного снижения иммунитета и нарушения барьерных функций кожи и слизистых оболочек из внутренних органов рыб в значительном количестве удается выделить грампозитивных сапрофитных бактерий, являющихся представителями нормофлоры воды [17]. Поэтому возможно, что при крайне высоком уровне отрицательного воздействия на рыбу преимущества получит не более вирулентная (активно продуцирующая факторы агрессии), а многочисленная или быстроразмножающаяся микрофлора.

Заключение

Полученные в ходе исследований результаты позволяют сделать следующие выводы. При поражении рыб эктопаразитическими простейшими начинает возрастать обсемененность поверхности тела, которая напрямую зависит от количества паразитов. При достижении некоторой «критической» массы бактерий на поверхности тела начинается развитие септического бактериоза. При поражении рыб костиями и триходинами даже при сравнительно низком уровне инвазии (ЭИ 10-20%, ИИ 10-30 паразитов в поле зрения) складываются благоприятные условия для развития секундарной инфекции. В случае поражения сидячими инфузориями вероятность развития бактериальных осложнений существенно ниже, что объясняется особенностями их образа жизни.

Инфекционными агентами, поражающими рыб чаще всего являются находящиеся в воде условно-патогенные грамнегативные микроорганизмы. Пусковым механизмом заболевания в данном случае служит снижение под действием инвазии иммунного статуса рыб, а входными воротами инфекции поврежденные паразитами покровные ткани.

При лечении эктопротозойных заболеваний рыб антипаразитарную терапию необходимо сочетать с антибактериальной. В противном случае даже избавленная от паразитов рыба погибнет в результате развивающегося септического процесса.

РЕЗЮМЕ

Установлена прямая корреляционная связь между уровнем пораженности рыб простейшими эктопаразитами и частотой бактериальных осложнений. Развитие бактериоза наиболее вероятно при поражении рыб представителями родов Costia и Trichodina. Инфекционные агенты, представленные условно-патогенными микроорганизмами первоначально накапливаются на поверхности тела, а затем через поврежденные покровные ткани проникают в организм рыбы. При лечении эктопротозойных инвазий рыб необходимо сочетать антипаразитарную и антимикробную терапию.

SUMMARY

Direct correlation between of infection of fish by ectoprotozoo and bacterial complication was established. Most frequently bacterial infection are developed at infection of fish by Costia spp. and Trichodina spp. Facultative pathogen bacteria primary accumulate on surface of body of fish and than through damaged tegu-

ment penetrate into the organism of fish. At the treatment of fish, necessary combine antiparasitic and antibacterial therapy.

Литература

1. Dr. Chris Andrews, Adrian Exell & Dr. Neville Carington. The interpet manual of fich health.- Interpet Ltd., 2005. 208 p.
2. Bassleer G. The new illustrated guide to fish diseases in ornamental tropical and pond fish. Westmeerbeec: Responsible publisher, 2005. 232. p.
3. Гаврилин К.В. Использование «Антибака ПРО» для лечения эндопаразитарных инвазий декоративных рыб осложненных бактериальной инфекцией // Труды ГНУ «ВИГИС» т. 43. М.: Россельхозакадемия, 2006. С. 26–36.
4. Определитель паразитов пресноводных рыб СССР. Л.: Изд-во академии наук СССР, 1962. 776 с.
5. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина, 1978. 394 с.
6. Покровский В.И. Энтеробактерии (Руководство для врачей). М.: Медицина, 1985. 321 с.
7. Определитель бактерий Берджи. под ред. Дж. Хоулта., 1995 г. 600 с.
8. Кауфман Ф. Семейство кишечных бактерий (пер. с английского Доссер Е.М., Голубевой И.В.).- М.: Медгиз, 1959. 354 с.
9. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. М.: Практика, 1998. С. 250-269.
10. Головина Н.А., Стрелков Ю.А., Воронин В.Н., Головин П.П., Евдокимова Е.Б., Юхименко Л.Н. Ихтиопатология. Под ред. Н.А.Головиной, О.Н.Бауэра. М.: Мир, 2003. 448 с.
11. Юхименко Л.Н., Койдан Г.С., Бычкова Л.И., Смирнов Л.П. Биологические свойства аэромонад и их роль в патологии рыб // Рыбн. хоз.-во. Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре: Аналит. и реф. Инф. М.: ВНИЭРХ, 2001. Вып.1. С. 1-10.
12. Гаврилин К.В. Опыт борьбы с бактериальной геморрагической септицемией (БГС) в условиях декоративной аквариумистики // Мат-лы Междунар. научн.-практ. конф. Молодых ученых Киев. 2002. С. 147-149
13. Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И., Гаврилин К.В., Трифонова Е.С. Проблема экологической безопасности лечебных и профилактических мероприятий в рыбоводстве // Мат–лы Междунар. научн.-практ. конф. «Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности» М.: Россельхозакадемия, 2005. С. 344–347.
14. Гаврилин К.В., Юхименко Л.Н., Бычкова Л.И. Влияние факторов окружающей среды на микробиоценоз рыбоводных прудов // Мат-лы Межд. науч.-практ. конф. «Аквакультура начала XXI века: истоки, состояние, стратегия развития». М.: ВНИРО, 2002. С. 282-285.
15. Каховский А.Е., Михайловская А.В., Кузьмина Л.В. Взаимосвязь интенсификации рыбоводства, условий обитания аэромонад и клинического состояния рыб // Сб. научн. тр. Молд. НИРХС / Интенсификация выращивания товарной рыбы в Молдавии. Кишинев, 1989. С. 68-79.
16. Каховский А.Е., Тромбицкий И.Д. Метод профилактики аэромонозов прудовых рыб и повышения продуктивности рыбоводных прудов. // Рыбн. хоз.-во / Сер. Аквакультура. Информ. пакет. М.: ЦНИИТЭИРХ, 1991. Вып. 1. С. 7-10.
17. Ларцева Л.В., Катунин Д.Н. Микрофлора рыб – биоиндикатор загрязнения дельты Волги / Сб. научн. тр. / Водные биоресурсы, воспр-во и экология гидробионтов. М.: ВНИИПРХ, 1993. Вып. 69. С. 155-163.

Х Георгиу., Р.М., Хамурзов Е.М. Горбунова, В.Г. Орел
Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р.Коваленко

К ВОПРОСУ О ДИАГНОСТИКЕ АНАПЛАЗМОЗА КРУПНОГО И МЕЛКОГО РОГАТОГО СКОТА

Анаплазмоз – трансмиссивная, природноочаговая, инфекционная болезнь крупного и мелкого рогатого скота, зебу, буйволов и филогенетически родственных им диких жвачных (парнокопытных) – лось, олень, косуля, сайгак, козерог, архар, муфлон, и др. животных, вызываемая возбудителями порядка Rhickettsiales, семейства Anaplasmatacea, рода Anaplasma. Возбудители анаплазмоза обладают видовой специфичностью.

Анаплазмоз вызывают: у крупного рогатого скота и родственных ему диких животных – A. marginale и A. centrale; у овец, коз и родственных им диких животных – A. ovis.

Заболевание животных анаплазмозом наблюдают в любое время года. Болезнь регистрируется во всех странах мира.

Заболевание протекает остро, подостро, хронически с переходом в длительное (практически пожизненное) анаплазмоносительство и сопровождается глубокой анемией аутоиммунной природы, лихорадкой постоянного или перемежающегося типа, рецидивами, расстройством работы сердца, органов дыхания и желудочно-кишечного тракта с последующим истощением и гибелью животного.

К сожалению, эти болезни наносят значительный вред животным. В странах СНГ гибель крупного рогатого скота от анаплазмоза колеблется от 25% и выше. За рубежом – достигает 50-80% (H.Seifert, 1960), а иногда и 96-100% (A.Lubrini, 1969).

К настоящему времени анаплазмоз за-